


  
**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
   
 INTERNATIONALES BÜRO
   
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
   
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>C12P 13/02, 41/00</b></p>	<b>A1</b>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 96/23894</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 8. August 1996 (08.08.96)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP96/00234</b></p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 20. Januar 1996 (20.01.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:          195 03 605.0      3. Februar 1995 (03.02.95)      DE          195 23 151.1      29. Juni 1995 (29.06.95)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).</b></p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>BALKENHOHL, Friedhelm [DE/DE]; Kirchenstrasse 22, D-67117 Limburgerhof (DE). DITRICH, Klaus [DE/DE]; Raiffeisenstrasse 10, D-67161 Gönheim (DE). NÜBLING, Christoph [DE/DE]; Wilhelmstrasse 13, D-67454 Haßloch (DE).</b></p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: <b>BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).</b></p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: <b>CA, CN, JP, KR, SG, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</b></p> <p><b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>	
<p>(54) Title: <b>RACEMATE SEPARATION OF PRIMARY AND SECONDARY HETEROATOM-SUBSTITUTED AMINE BY ENZYME-CATALYSED ACYLATION</b></p> <p>(54) Bezeichnung: <b>RACEMATSPALTUNG PRIMÄRER UND SEKUNDÄRER HETEROATOMSUBSTITUIERTER AMINE DURCH ENZYM-KATALYSIERTE ACYLIERUNG</b></p> <p>(57) Abstract</p> <p>A process for preparing optically active primary and secondary heteroatom-substituted amines from the corresponding racemates is characterised in that (a) a racemic heteroatom-substituted amine is enantioselectively acylated in the presence of a hydrolase with an ester whose acid component bear a fluorine, nitrogen, phosphorus, oxygen or sulphur atom next to the carbonyl carbon atom; (b) the mixture of optically active heteroatom-substituted amine and optically active acylated heteroatom-substituted amine is separated in order to produce an enantiomer of the heteroatom-substituted amine; (c) the other enantiomer of the heteroatom-substituted amine is optionally extracted from the acylated heteroatom-substituted amine by amide cleavage.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Beschrieben wird ein Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven primären und sekundären heteroatomsubstituierten Aminen aus den entsprechenden Racematen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man a) ein racemisches heteroatomsubstituiertes Amin mit einem Ester, dessen Säurekomponente ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-, Sauerstoff- oder Schwefelatom in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms trägt, in Gegenwart einer Hydrolase enantioselektiv acyliert, b) das Gemisch aus optisch aktivem heteroatomsubstituiertem Amin und optisch aktivem acylierten heteroatomsubstituiertem Amin trennt und somit ein Enantiomer des heteroatomsubstituierten Amins erhält, c) gewünschtenfalls aus dem acylierten heteroatomsubstituierten Amin das andere Enantiomere des heteroatomsubstituierten Amins durch Amidspaltung gewinnt.</p>		

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LJ	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LX	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

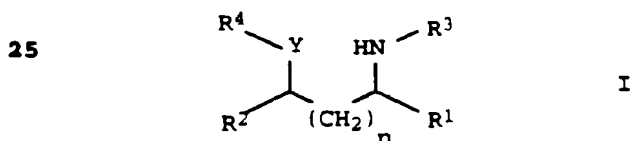
Racematspaltung primärer und sekundärer heteroatoms substituierter Amine durch Enzym-katalysierte Acylierung

### 5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Racematspaltung primärer und sekundärer heteroatoms substituierter Amine durch Umsetzung mit einem Ester in Gegenwart einer Hydrolase und anschließende Trennung des einen enantioselektiv acylierten heteroatoms substituierten Amins vom nicht umgesetzten anderen Enantiomer des heteroatoms substituierten Amins.

In WO 95/08636 wird ein Verfahren zur Racematspaltung primärer und sekundärer Amine durch Umsetzung mit einem Ester in Gegenwart einer Hydrolase beschrieben. Als bevorzugte Amine werden dort primäre Arylalkylamine genannt. Es findet sich jedoch kein Hinweis auf die Verwendbarkeit von heteroatoms substituierten Aminen.

20 Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß das eingangs beschriebene Verfahren besonders vorteilhaft funktioniert, wenn als heteroatoms substituiertes Amin ein Amin der allgemeinen Formel I



30 wobei

- n 0, 1, 2, 3;  
 Y O, S, NH, NR<sup>5</sup>;  
 35 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> unabhängig voneinander jeweils H, Alkyl oder Aryl oder R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> oder R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup>, oder R<sup>1</sup> und R<sup>4</sup> zusammen mit den benachbarten C-Atomen Teil eines Ringsystems;  
 R<sup>4</sup> Alkyl oder Arylalkyl;  
 R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup> unabhängig voneinander H, Alkyl oder Arylalkyl bedeuten,

40 eingesetzt wird.

Weiterhin wurde ein Verfahren zur Herstellung von acylierten primären und sekundären Aminen durch Umsetzung der heteroatoms substituierten Amine mit einem Ester unter spezifischer Katalyse mit einer Hydrolase gefunden, das dadurch gekennzeichnet ist, daß die Säurekomponente des Esters ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-,

45

Sauerstoff-, oder Schwefelatom in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms trägt.

Die für das erfindungsgemäße Verfahren geeigneten Ester sind  
 5 solche, die in der Säurekomponente des Esters ein elektronenreiches Heteroatom in Nachbarschaft zum Carbonylkohlenstoff tragen oder bei denen in der Säurekomponente ein Akzeptorsubstituent in Form eines oder mehrerer Heteroatome in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms sitzt.

10

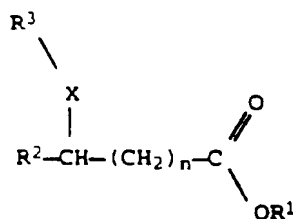
Das Heteroatom muß über mindestens ein freies Elektronenpaar verfügen. Es kann ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-, Sauerstoff- oder Schwefelatom sein.

15 Es soll sich in der Nachbarschaft zum Carbonylkohlenstoff befinden. Darunter ist die Bindung des Heteroatoms an ein Kohlenstoffatom in alpha-, beta- oder gamma-Position zum Carbonylkohlenstoff gemeint. Das Heteroatom kann auch eine Mehrfachbindung zum Kohlenstoff aufweisen, wie sie in der Cyanogruppe  
 20 vorkommt. Bevorzugt sind solche Säurekomponenten des Esters, bei denen das Heteroatom an das C-alpha Atom gebunden ist. Als Heteroatom ist Sauerstoff bevorzugt.

Das Heteroatom kann gegebenenfalls mit weiteren Gruppen, z.B.  
 25 Alkylgruppen, verknüpft sein. Ist das Heteroatom beispielsweise Sauerstoff, so liegt eine Ethergruppe vor.

Besonders geeignete Ester sind solche mit der Struktur

30



35

worin

- R<sup>1</sup> = C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-Alkyl,  
 40 R<sup>2</sup> = C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-Alkyl, H  
 R<sup>3</sup> = H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-Alkyl, gegebenenfalls durch NH<sub>2</sub>, OH, C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>-Alkoxy oder Halogen substituiertes Phenyl,  
 X = O, S, NR<sup>4</sup>,  
 R<sup>4</sup> = H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-Alkyl, gegebenenfalls durch NH<sub>2</sub>, OH, C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>-Alkoxy  
 45 oder Halogen substituiertes Phenyl,  
 n = 0, 1 oder 2

bedeuten. Unter diesen sind die C<sub>1-4</sub>-Alkylester der C<sub>1-4</sub>-Alkoxyessigsäuren, wie der Methoxyessigsäureethylester, bevorzugt.

Als Hydrolasen können in dem erfindungsgemäßen Verfahren eine  
5 Vielzahl von Enzymen eingesetzt werden. Bevorzugt werden Proteasen und insbesondere Lipasen verwendet. Als Lipasen sind vor allem mikrobielle Lipasen gut geeignet, die beispielsweise aus Hefen oder Bakterien isolierbar sind. Besonders gut geeignet sind Lipasen aus Pseudomonas, z. B. Amano P oder die Lipase aus  
10 Pseudomonas spec. DSM 8246. Weitere besonders gut geeignete Hydrolasen sind die von Novo Nordisk (Enzyme Toolbox) kommerziell erhältlichen Enzyme, insbesondere die Lipasen SP 523, SP 524, SP 525, SP 526 und Novozym® 435. Diese Enzyme sind mikrobielle Lipasen, die aus Hefen wie Candida antarctica herstellbar sind.

15

Des weiteren können die Lipasen "Chirazyme L1 bis L8", welche kommerziell erhältlich sind (Boehringer Mannheim), vorteilhaft in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden.

20 Das verwendete Enzym kann in nativer oder in immobilisierter Form eingesetzt werden. Besonders gut eignet sich das immobilisierte Enzym Novozym® 435.

Die erfindungsgemäßen Verfahren können unter Verwendung von  
25 Lösungsmitteln oder auch lösungsmittelfrei durchgeführt werden.

Als Lösungsmittel sind generell organische Lösungsmittel geeignet. Besonders gut verläuft die Reaktion in Ethern, beispielsweise in MTBE 1,4-Dioxan oder THF, oder in Kohlenwasser-  
30 stoffen wie Hexan, Cyclohexan, Toluol oder halogenierten Kohlenwasserstoffen wie Methylenchlorid.

Die Umsetzung des Esters mit dem racemischen heteroatomsubstituierten Amin unter Enzymkatalyse wird üblicherweise bei Raumtem-  
35 peratur ausgeführt. Die Reaktionszeiten dafür betragen je nach Substrat 1 bis 48 Stunden. Sekundäre heteroatomsubstituierte Amine benötigen in der Regel längere Reaktionszeiten als primäre heteroatomsubstituierte Amine. Die geringere Reaktivität sekundärer heteroatomsubstituierter Amine kann auch durch eine gegenüber  
40 primären heteroatomsubstituierten Aminen erhöhte Menge an Katalysator ausgeglichen werden.

Pro Mol umzusetzendes Amin werden 0,5 bis 3 Mol Ester zugesetzt. Auch bei Verwendung racemischer Substrate werden 0,5 bis 3, be-  
45 vorzugt 0,5 bis 1,0 Mol Ester zugesetzt.

Die zuzusetzende Menge an Enzym hängt von der Art der Hydrolase und der Aktivität der Enzympräparation ab. Die für die Reaktion optimale Enzymmenge kann leicht durch einfache Vorversuche ermittelt werden. In der Regel werden 1000 Units Lipase pro mMol 5 heteroatomsubstituierten Amin zugesetzt.

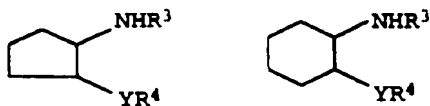
Der Reaktionsverlauf läßt sich leicht mit üblichen Methoden beispielsweise mittels Gaschromatographie verfolgen. Im Falle der Racematspaltung beendet man die Reaktion sinnvollerweise bei 10 einem Umsatz von 50% des racemischen heteroatomsubstituierten Amins. Dies geschieht in der Regel durch Entfernen des Katalysators aus dem Reaktionsraum, beispielsweise durch Abfiltrieren des Enzyms.

15 Durch die enantioselektive Umsetzung des racemischen Substrats mit dem Ester entsteht aus dem einen Enantiomer das entsprechend acylierte Produkt (Amid), während das andere Enantiomer unverändert bleibt. Das nun vorliegende Gemisch aus heteroatomsubstituierten Aminen und Amid läßt sich mit üblichen Methoden leicht 20 trennen. Gut geeignet zur Trennung des Gemisches aus Amin und Amid sind beispielsweise Extraktions- oder Destillationsverfahren.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich besonders vorteilhaft 25 zur Acylierung von heteroatomsubstituierten Aminen der Formel I. Auch die Racematspaltung von praktisch allen primären und sekundären heteroatomsubstituierten Aminen ist damit durchführbar. Besonders gut verläuft es bei primären Aminoalkoholen, vor allem solchen, bei denen R<sup>4</sup> Arylalkyl, insbesondere Benzyl, oder Alkyl, 30 insbesondere Methyl bedeutet.

Weitere bevorzugte Verbindungen der Formel I sind solche, bei denen R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> mit den benachbarten C-Atomen ein Ringsystem bilden, insbesondere solche der folgenden Struktur

35

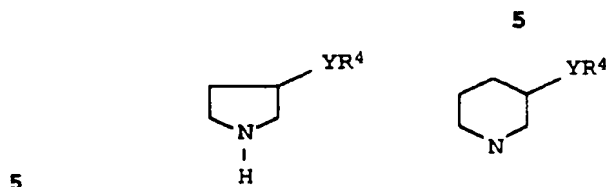


40

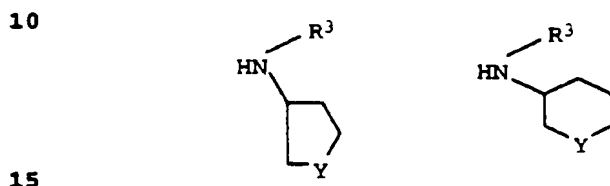
cis und trans

cis und trans

oder R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> Teil eines Ringsystems sind, insbesondere solche 45 der folgenden Struktur



oder  $R^1$  und  $R^4$  Teil eines Ringsystems sind, insbesondere solche der folgenden Struktur



Überraschenderweise verläuft die Umsetzung von heteroatomsubstituierten Aminen der Formel I mit sehr viel höheren optischen Ausbeuten als die analoge Umsetzung nicht-heteroatomsubstituierter bzw. anders als in Formel I substituierter Amine.

Weiterhin bedarf es infolge der hohen Selektivität und Reaktivität des erfindungsgemäßen Verfahrens keines oder nur eines geringen Überschusses an Acylierungsmittel, was die nachfolgende Trennung und Reinigung stark erleichtert.

Die Erfindung eignet sich auch zur Herstellung von optisch aktiven primären und sekundären heteroatomsubstituierten Aminen aus den entsprechenden Racematen, in dem man

- 30
- a) ein racemisches heteroatomsubstituiertes Amin mit einem Ester, dessen Säurekomponente ein Fluor-, Stickstoff-, Sauerstoff- und Schwefelatom in Nachbarschaft zum Carbonylkohlenstoffatom trägt, in Gegenwart einer Hydrolase enantio-
  - 35 selektiv acyliert,
  - b) das Gemisch aus optisch aktivem heteroatomsubstituiertem Amin und optisch aktivem acyliertem heteroatomsubstituiertem Amin trennt und somit ein Enantiomer des heteroatomsubstituierten
  - 40 Amins erhält,
  - c) gewünschtenfalls aus dem acylierten heteroatomsubstituierten Amin das andere Enantiomere des heteroatomsubstituierten
  - 45 Amins durch Amidspaltung gewinnt.

Das erfindungsgemäße Verfahren läßt sich noch ökonomischer gestalten, wenn man nach Abtrennung des gewünschten Enantiomers das verbliebene, nicht gewünschte Enantiomer racemisiert und erneut in das Verfahren einsetzt. Durch diese Rückführung wird es möglich, insgesamt mehr als 50% des gewünschten Enantiomers aus dem racemischen heteroatoms substituierten Amin zu erhalten.

Die erfindungsgemäßen Verfahren eignen sich nicht nur als Herstellungsverfahren zur Produktion optisch aktiver primärer und sekundärer heteroatoms substituierten Amine, sondern können auch Bestandteil von komplizierten chemischen Mehrstufensynthesen, beispielsweise bei der Herstellung von Arzneiwirkstoffen oder Pflanzenschutzmitteln, sein.

Die folgenden Beispiele dienen der Veranschaulichung der Erfindung.

Beispiel 1: Allgemeine Arbeitsvorschrift  
Lipase-katalysierte Acylierung von  
heteroatoms substituierten Aminen

10 mmol des primären oder sekundären heteroatoms substituierten Amins werden in MTBE (= Methyl-tert.butylether) gelöst (ca. 10 %ige Lösung). Die Lösung wird mit 11 mmol Methoxyessigsäure-ethylester versetzt und die Reaktion durch Zusatz von 100 mg Lipase (ca. 1000 U/mg, Pseudomonas spec. DSM 8246) gestartet. Bei vollständigem Umsatz (je nach heteroatoms substituierten Aminen 12 bis 48 h) wird das Enzym abfiltriert und die Lösung im Vakuum konzentriert. Man erhält die Methoxyacetamide in einer Ausbeute von über 90 Prozent.

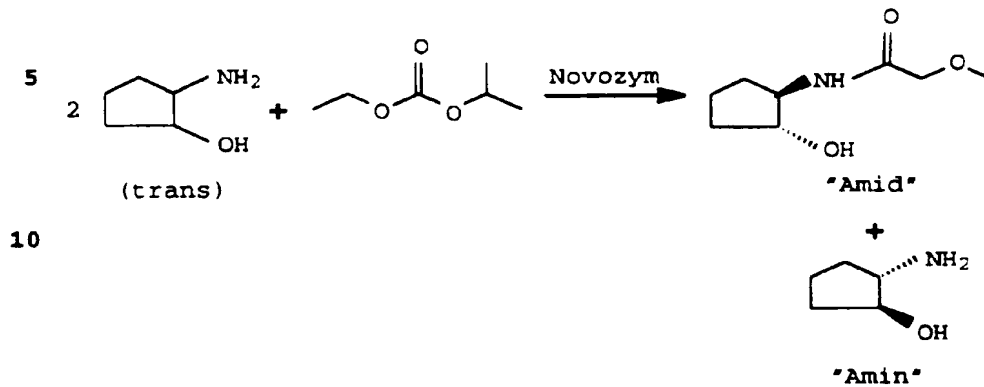
Beispiel 2: Allgemeine Arbeitsvorschrift für Racematspaltung

Das primäre oder sekundäre heteroatoms substituierten Aminen wird in MTBE gelöst (ca. 10 Gew.-%). Nach Zusatz von 1 Mol Methoxyessigsäureethylester pro 1 Mol racemisches heteroatoms substituiertes Amin wird Pseudomonas-Lipase (DSM 8246) zugesetzt und die Suspension bei Raumtemperatur gerührt. Pro mmol heteroatoms substituiertes Amin werden etwa 10000 Units Lipase (10mg) zugesetzt. Nach Erreichen eines Umsatzes von 50 % (Überprüfung mittels Gaschromatographie), was je nach heteroatoms substituierten Aminen nach 1 bis 48 h erreicht ist, wird das Enzym abfiltriert. Das Gemisch aus heteroatoms substituierten Aminen und acyliertem heteroatoms substituiertem Amin (Amid) wird durch Destillation oder Extraktion getrennt.



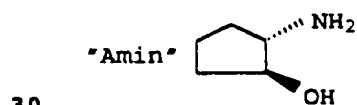
7

## Beispiel 3: Racematspaltung mit Lösungsmittel

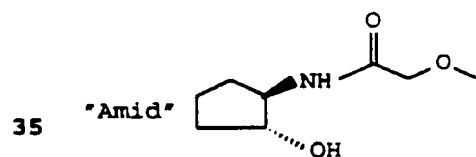


5 g (49,5 mmol) trans-2-Aminocyclopentanol wurden in 20 ml 1,4-Dioxan gelöst, mit 3,3 g (25 mmol) Methoxyessigsäure-iso-propylester versetzt und nach Zugabe von 0,1 g Novozym 435<sup>®</sup> bei 20 Raumtemperatur geschüttelt. Nach 12 h war laut <sup>1</sup>H-NMR 50 % des eingesetzten Amins umgesetzt; man filtrierte das Enzym ab, engte das Filtrat ein und trennte das unumgesetzte Amin destillativ vom gebildeten Amid ab.

## 25 Ausbeuten:

2,35 g  $\hat{=}$  94 %[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> + 9,1° (c = 1,74 in EtOH)

ee = 25 %

4,1 g  $\hat{=}$  95 %

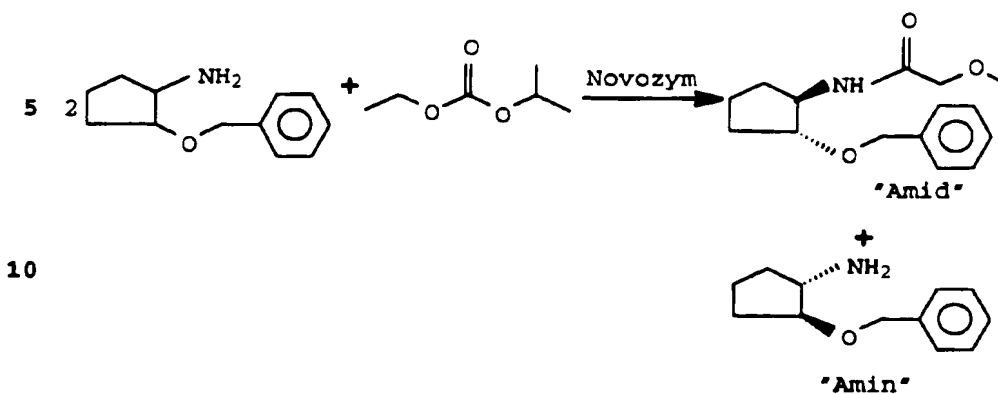
ee lt. HPLC = 25 %

40

45

8

## Beispiel 4: Racematspaltung ohne Lösungsmittel



5 g (26 mmol) trans-2-Benzyloxy-1-cyclopentylamin und 1,8 g (13,4 mmol) Methoxyessigsäure-isopropylester wurden gemischt, mit 0,1 g Novozym 435<sup>®</sup> versetzt und bei Raumtemperatur geschüttelt. Lt. <sup>1</sup>H-NMR waren nach 120 h 50 % des Amins umgesetzt. Das Enzym wurde abfiltriert und das "Amin" durch Extraktion mit 10 %iger Salzsäure vom "Amid" abgetrennt.

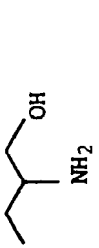
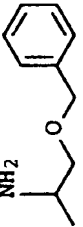

## Ausbeuten:

25	"Amin"	2,2 g $\hat{=}$ 88 % [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> + 45,6° (c = 1 in Dioxan) ee lt. HPLC = > 99,5 %
30	"Amid"	4,9 g $\hat{=}$ 92 % [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> + 6,0° (c = 1 in Dioxan) ee lt. HPLC = 93 %

## 35 Beispiel 5: Weitere Racematspaltungen

Gemäß Beispiel 3 bzw. 4 wurden folgende Umsetzungen (s. Tabelle) durchgeführt.

Tabelle

eingesetztes Startmaterial	Herstellung nach Beispiel	Umsatz [%]	Amin		Amid	
			Drehwert*	ee	Drehwert*	ee
	3	50	- 1.5° (c = 1 in Ethanol)	24 %	-	26 % (lt. HPLC)
	3	50	+ 4.9° (HCl-Addukt) (c = 1 in CHCl <sub>3</sub> )	> 95 % (lt. HPLC)	+ 28° (c = 1 in Dioxan)	> 99.5 % (lt. HPLC)
	4	50	+ 4.8° (HCl-Addukt) (c = 1 in CHCl <sub>3</sub> )	> 95 % (lt. HPLC)	+ 27.5° c = 1 in Dioxan	> 99.5 % (lt. HPLC)
	4	42	+ 9.8° (c = 1 in Dioxan)	70 %	-	99.5 % (lt. HPLC)

\* Die Drehwerte wurden bei der Na-D-Linie bei Raumtemperatur gemessen

Die Tabelle in Beispiel 5 zeigt, daß bei Verwendung "geschützter" Aminoalkohole, bei denen das Sauerstoffatom beispielsweise in Nachbarschaft zu einer Benzyl- oder Methylgruppe steht, sich sehr viel höhere optische Reinheiten erzielen lassen als bei Verwendung ungeschützter Aminoalkohole.

10

15

20

25

30

35

40

45

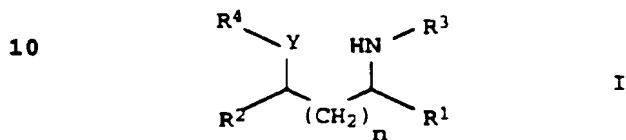
## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von acylierten primären und sekundären heteroatomsubstituierten Aminen durch Umsetzung der heteroatomsubstituierten Amine mit einem Ester in Gegenwart einer Hydrolase, wobei die Säurekomponente des Esters ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-, Sauerstoff- oder Schwefelatom in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms trägt.  
5  
10
2. Verfahren zur Racematspaltung primärer und sekundärer heteroatomsubstituierten Amine durch Umsetzung mit einem Ester in Gegenwart einer Hydrolase und anschließende Trennung des einen, enantioselektiv acylierten heteroatomsubstituierten Amins vom nicht umgesetzten anderen Enantiomer des heteroatomsubstituierten Amins, wobei die Säurekomponente des Esters ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-, Sauerstoff- oder Schwefelatom in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms trägt.  
15  
20
3. Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven primären und sekundären heteroatomsubstituierten Aminen aus den entsprechenden Racematen, indem man  
25
  - a) ein racemisches heteroatomsubstituiertes Amin mit einem Ester, dessen Säurekomponente ein Fluor-, Stickstoff-, Phosphor-, Sauerstoff- oder Schwefelatom in Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffatoms trägt, in Gegenwart einer Hydrolase enantioselektiv acyliert,  
30
  - b) das Gemisch aus optisch aktivem heteroatomsubstituiertem Amin und optisch aktivem acylierten heteroatomsubstituierten Amin trennt und somit ein Enantiomer des heteroatomsubstituierten Amins erhält,  
35
  - c) gewünschtenfalls aus dem acylierten heteroatomsubstituierten Amin das andere Enantiomere des Amins durch Amidspaltung gewinnt.  
40
4. Verfahren gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man in Anschluß an Schritt b) oder c) in einem weiteren Schritt das nicht-gewünschte Enantiomer racemisiert und anschließend in das Verfahren der Racematspaltung zurückführt.  
45

## 12

5. Verfahren zur Herstellung von optisch aktiven Verbindungen, dadurch gekennzeichnet, daß es mindestens als Teilschritt ein Verfahren nach Anspruch 2 bis 4 beinhaltet.

5 6. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als primäres oder sekundäres heteroatoms substituiertes Amin ein Amin der allgemeinen Formel I



15 wobei

n 0, 1, 2, 3;

Y O, S, NH, NR<sup>5</sup>;

20 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> unabhängig voneinander jeweils H, Alkyl oder Aryl oder R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup>, oder R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup>, oder R<sup>1</sup> und R<sup>4</sup> zusammen mit den benachbarten C-Atomen Teil eines Ringsystems;

R<sup>4</sup> Alkyl oder Arylalkyl;

25 R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup> unabhängig voneinander H, Alkyl oder Arylalkyl bedeuten,

eingesetzt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß 30 Verbindungen der Formel I mit Y = O eingesetzt werden.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>4</sup> die Bedeutung Methyl oder Benzyl hat.

35

40

45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 96/00234

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 C12P13/02 C12P41/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US,A,5 057 607 (ZMIJEWSKI JR MILTON J ET AL) 15 October 1991 see the whole document ---	1-3
A	J. CHEM. SOC., PERKIN TRANS. 1 (1993), (20), 2453-6 CODEN: JCPRB4;ISSN: 0300-922X, XP002000855 GOTOR, VICENTE ET AL: "Synthesis of optically active amides from.beta.-furyl and.beta.-phenyl esters by way of enzymic aminolysis" see the whole document --- -/--	1

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*A\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 April 1996

Date of mailing of the international search report

09.05.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Delanghe, L

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 96/00234

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TETRAHEDRON LETT. (1991), 32(33), 4197-8 CODEN: TELEAY;ISSN: 0040-4039, XP002000856 ASENSIO, GREGORIO ET AL: "Enzyme-mediated enantioselective acylation of secondary amines in organic solvents" see the whole document ---	1
A	JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, no. 14, 15 July 1988, LETCHWORTH GB, pages 957-958, XP002000857 VICENTE GOTOR ET AL.: "Enantioselective acylation of amino alcohols by porcine pancreatic lipase" see the whole document ---	1
P,A	DE,A,43 32 738 (BASF AG) 30 March 1995 see the whole document -----	1

1

Form PCT/ISA/218 (continuation of second sheet) (July 1992)

page 2 of 2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 96/00234

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-5057607	15-10-91	AT-T- 130039	15-11-95
		CA-A- 2043763	09-12-91
		DE-D- 69114363	14-12-95
		EP-A- 0460949	11-12-91
		JP-A- 4341196	27-11-92
		HU-B- 211034	28-09-95
DE-A-4332738	30-03-95	WO-A- 9508636	30-03-95

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PC1/EP 96/00234

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 C12P13/02 C12P41/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 C12P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US,A,5 057 607 (ZMIJEWSKI JR MILTON J ET AL) 15.Oktober 1991 siehe das ganze Dokument ---	1-3
A	J. CHEM. SOC., PERKIN TRANS. 1 (1993), (20), 2453-6 CODEN: JCPRB4;ISSN: 0300-922X, XP002000855 GOTOR, VICENTE ET AL: "Synthesis of optically active amides from beta.-furyl and beta.-phenyl esters by way of enzymic aminolysis" siehe das ganze Dokument --- -/--	1

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam angesehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*A\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. April 1996

Abmeldedatum des internationalen Recherchenberichts

09.05.96

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Delanghe, L

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

Seite 1 von 2

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen  
PCT/EP 96/00234

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	TETRAHEDRON LETT. (1991), 32(33), 4197-8 CODEN: TELEAY;ISSN: 0040-4039, XP002000856 ASENSIO, GREGORIO ET AL.: "Enzyme-mediated enantioselective acylation of secondary amines in organic solvents" siehe das ganze Dokument ---	1
A	JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, Nr. 14, 15.Juli 1988, LETCHWORTH GB, Seiten 957-958, XP002000857 VICENTE GOTOR ET AL.: "Enantioselective acylation of amino alcohols by porcine pancreatic lipase" siehe das ganze Dokument ---	1
P,A	DE,A,43 32 738 (BASF AG) 30.März 1995 siehe das ganze Dokument -----	1

1

Formblatt PCT/ISA/210 (Fortsetzung von Blatt 2) (Juli 1992)

Seite 2 von 2

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 96/00234

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-5057607	15-10-91	AT-T- 130039	15-11-95
		CA-A- 2043763	09-12-91
		DE-D- 69114363	14-12-95
		EP-A- 0460949	11-12-91
		JP-A- 4341196	27-11-92
		HU-B- 211034	28-09-95
DE-A-4332738	30-03-95	WO-A- 9508636	30-03-95

Formblatt PCT/ISA/210 (Anhang Patentfamilie) (Juli 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US93/12638

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, A, 92/12144 (SHIOTA et al.) 23 July 1992. See page 5 & 6 definitions for I when n is zero, compound 469, page 54.	1-5, 21-6
Y,P	WO, A, 93/09115 (HARRISON et al.) 13 May 1993. See entire document.	1-26
A	Jour. American Chem. Soc., Vol. 104, No. 25 issued 1982, SANDIFER et al. "SQUALENE SYNTHETASE: Inhibition by an Ammonium Analog of a Carbocationic Intermediate in the Conversion of Presqualene Pyrophosphate to Squalene", see pages 7376-8.	1-26
A	JOUR. AMER. CHEM. SOC., VOL. 111, NO. 10, issued 1989, POULTER et al. "SQUALENE SYNTHETASE. INHIBITION By AMMONIUM ANALOGUES OF CARBOCATIONIC INTERMEDIATES IN THE CONVERSION OF PRESQUALENE O. PHOSPHATE TO SQUALENE," pages 3734-39.	1-26
A	JOUR. MED. CHEM., VOL. 31, NO. 10, issued OCTOBER 1988, BILLER et al., "ISOPRENOID (PHOSPHINYLMETHYL) PHOSPHONATES AS INHIBITORS OF SQUALENE SYNTHETASE", pages 3734-39.	1-26
A	Jour. Med. Chem., Vol. 31, No. 10, issued October 1988, Biller et al. "ISOPRENOID (PHOSPHINYLMETHYL) PHOSPHONATES AS INHIBITORS OF SQUALENE SYNTHETASE", pages 1869-71.	1-26
A	Jour. of Pharmaceutical Sci., Vol. 80, No. 8, issued August 1991, STERLING et al. "QUATERNARY AND TERTIARY QUINUCLIDINE DERIVATIVES AS INHIBITORS OF CHOLINE UPTAKE", pages 785-9.	1-26
Y	WO, A, 92/15579 (NEUENSCHWANDER et al.) 17 September 1992. See claim 1 pages 54-5, where R1 and R3 may be (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> and B is CR'R'1	1-26

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992)\*

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US93/12638

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.: 1-3, 21-26  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
  
"Heteroaryl" cannot be completely searched in the PTO files, but these claims are searched to the extent they read on benzoxazole.
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet(1))(July 1992)\*